

Adatok az akác rhizobium baktériumok élettani tulajdonságainak ismeretéhez.

KECSKÉS MIHÁLY, MANNINGER ERNŐ és SOÓS TIVADAR

MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete és a
Phylaxia Állami Oltóanyagtermelő Intézete, Budapest

Az akác rhizobium baktériumok élettani vizsgálataira vonatkozó adatok rendkívül hiányosak. A hazai irodalomban mindössze FEHÉR és BOKOR [4] munkáiban találunk utalást az akác rhizobiumok élettani tulajdonságait illetően, és BOKOR [3] végzett akác rhizobium oltási kísérleteket is.

Munkánkban a hazánkban akácmag oltási kísérletekhez használt leg-hatásosabb rhizobium baktérium törzsek (MANNINGER és Soós [1]) C- és N-forrás (aminosavak) hasznosításának, valamint antibiotikumérzékenységének tanulmányozását tűztük ki célul.

Anyag és módszer

Az ország különböző helyeiről származó és teljesítőképességükre (gumóképzésre és nitrogénfixálásra) megvizsgált baktérium-törzseket babagar táptalajon izoláltuk és tartottuk el.

A C-forrás értékesítő vizsgálatainkat az 1. táblázatban felsorolt 39 vegyülettel végeztük, (mono-, di-, poliszaccharidok, alkoholok, szerves savak Na-sói és szalicin glükózid). A N-forrás hasznosítás tanulmányozására pedig a következő 17 aminosavat használtuk fel: l-glikokoll, l-alanin, dl-valin, dl-leucin, l-aszparagin, l-glutamin, l-arginin, l-lizin, dl-szerin, dl-treonin, l-cisztein, l-cisztin, dl-metionin, dl-triptofán, l-tirozin, l-hisztidin, dl-ornitin.

A C-forrás értékesítő vizsgálatoknál AYRES, RUPP és JOHNSON [1] féle szervesetlen alaptáptalajban $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ szolgált N-forrásként 0,1 súlyszázalék mennyiségben.

A N-forrás hasznosítására LOCHHEAD és CHASE [10] által alkalmazott alaptáptalajt alkalmaztuk.

Az aminosavakat 0,01 molos oldatokban, a szénforrásokat 1 súlyszázalékos oldatokban használtuk, a szerves savak Na-sóit, valamint a metil- és etilalkoholokat 0,2 súlyszázalékban alkalmaztuk.

A C- és N-forrásokkal végzett munkálatok további módszere máshol (KECSKÉS [5]) részletesen megtalálható.

A sejtek alakját fénymikroszkóp segítségével gentianaibolya oldattal festve, az önálló mozgást sötétlátótérben vizsgáltuk.

Antibiotikum érzékenységi vizsgálatainkban némi módosítással az Otte és Köhler által javasolt lemez-módszert használtuk (KECSKÉS [6], KECSKÉS és MANNINGER [7, 8]).

A felhasznált antibiotikumok a következők voltak:
 Penicillin (Orvostud. Egyetem, Mikrobiol. Intézet, Budapest. 1587 NE/mg)
 Streptomycin (dihidrostreptomycinsulfat—Egyesült Gyógyszer és Tápszer-gyár, Budapest)
 Vionactan (viomycin-panthotenat-sulfat — „CIBA”)
 Tetracyclin-hydrat (Chinoin, Budapest)
 Desertomycin (Orvostudományi Egyetem, Gyógyszertani Intézet, Debrecen)
 Kanacyn (kanamycin-sulfat — Continental Pharma, Bruxelles)
 Neomycin (Byk. sulphate. — Byk-Gulden-Lomberg. Chem. Fabrik GmbH. Konstanz)

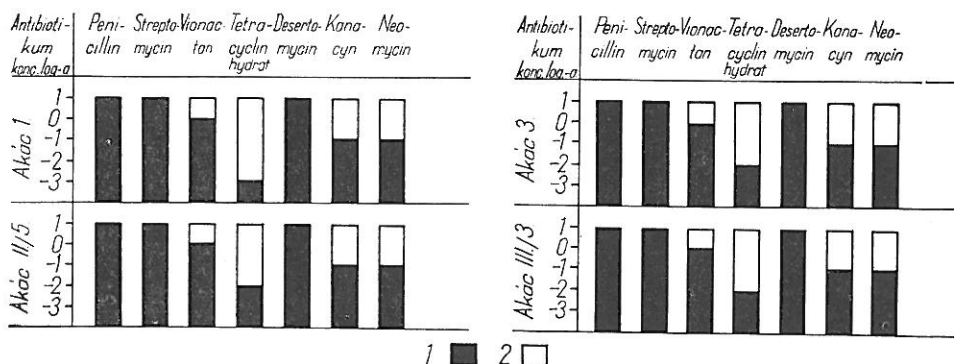
Eredmények és következtetések

Az akácból izolált rhizobium-törzsek Gram-negatív, önálló mozgással rendelkező pálcikák. A C-forrás hasznosítására és fermentálására vonatkozó adatokat az 1. táblázatban foglaltuk össze. Tekintve, hogy a rhizobiumok faji hovatartozásának meghatározása jelenleg nincs még egységesen kialakult vélemény, ezért az elterjedt baktériumhatározókban [2, és 9] megadott baktériumnevek helyett a növények neveit adtuk meg, amelyeknek gumóiból a forgó baktériumok származtak.

Általában a vizsgált törzsek a mono- és diszacharidokat használják fel növekedésükhöz. A poliszacharidokon raffinóz kivételével nem tapasztalható növekedés. A tanulmányozott baktériumtörzsek a szerves savak Na-sóit és az egyértékű alkoholokat csak elvétve hasznosítják. A szalicin glükózid, valamint a többértékű alkoholok közül a mezoinozít és a dulcít jó tápanyagforrásnak bizonyultak. A törzsek diszacharidokból a II/5 törzs kivételével gázt nem képeztek, de valamennyi törzs az összes diszacharidokból savat termelt.

A N-forrás hasznosítását a már említett 17 aminosavon tanulmányoztuk. Az aminosavak jó N-forrásként szolgáltak az akác rhizobiumok számára, csupán a dl-treonint nem hasznosította az akác 1, akác 3, és a III/3 törzs, valamint a dl-triptofánt az akác 1, a dl-metionint az akác 3 törzs.

Halványárga pigmentképzést a II/5, III/3 és 3 jelzésű baktérium-törzsek-nél l-cisztnin, a II/5 törzsnél l-alanin, l-glutamin, l-arginin, dl-ornitin alkal-



1. ábra

Antibiotikumok hatása az akác rhizobium baktériumokra. 1: Növekedés. 2: Gátlás

1. táblázat

Akác rhizobium baktériumok szénhidrát-hasznosítása és fermentációja

(1) Szénforrások		(2) Baktérium-törzsek jelzése								
		Akác 1			Akác II/5			Akác 3		
		(3) növekedés	(4) sav	(5) gáz	(3) növekedés	(4) sav	(5) gáz	(3) növekedés	(4) sav	(5) gáz
Monoszacharidok	d-arabinóz	+	+	—	—	—	—	+	+	—
	d-ribóz	+	+	—	+	+	+	+	+	—
	d-xilóz	+	+	—	+	+	+	+	+	—
	d-glükóz	+	+	—	+	+	+	+	+	—
	d-fruktóz	+	+	—	+	+	+	+	+	—
	d-galaktóz	+	+	—	+	+	+	+	+	—
	d-mannóz	+	+	—	+	+	+	+	+	—
Diszacharidok	l-szorbóz	—	—	—	—	—	—	+	+	—
	laktóz	+	+	—	+	+	+	+	+	—
	szaccharóz	+	+	—	+	+	+	+	+	—
	maltóz	+	+	—	+	+	+	+	+	—
	trehalóz	+	+	—	+	+	+	+	+	—
	melibióz	+	+	—	+	+	+	+	+	—
Poliszacharidok	cellobióz	+	+	—	+	+	+	+	+	—
	raffinóz	+	+	—	+	+	+	+	+	—
	keményítő	+	+	—	+	+	+	+	+	—
	inulin	+	+	—	+	+	+	+	+	—
	dextrin alba	+	+	—	+	+	+	+	+	—
Alkoholok	glikogén	+	+	—	+	+	+	+	+	—
	kitin	+	+	—	+	+	+	+	+	—
	metilalkohol	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	etilalkohol	+	+	—	—	—	—	+	+	—
	i-propilalkohol	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	i-amilalkohol	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	etilénglikoll	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	glicerín	+	+	—	+	+	—	+	+	—
	eritrit	+	+	—	+	+	—	+	+	—
	mannit	+	+	—	+	+	—	+	+	—
Glükozida	szorbit	+	+	—	—	—	—	+	+	—
	dulcitol	+	+	—	—	—	—	+	+	—
	mezoinozitol	+	+	—	+	+	—	+	+	—
	szalicin	+	+	—	+	+	+	+	+	—
	Na-acetát	—	—	—	+	—	—	+	—	—
	Na-maleát	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Na-tartarát	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Na-piruvát	+	+	—	+	—	+	+	—	—
Szerves savak Na-sói	Na-szukcinát	+	+	—	+	—	+	+	—	—
	Na-formiát	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Na-oxalát	—	—	—	—	—	—	—	—	—

+ = pozitív eredmény; ± = gyenge pozitív eredmény; — = negatív eredmény

mazása esetén találtunk, ugyanilyen pigmentet pedig a II/5, akác 3 és III/3 törzsek képeztek dl-triptofán tartalmú táptalajban.

A rhizobiumok élettani tulajdonságainak vizsgálataival kapcsolatban korábban már foglalkoztunk a lucerna (*Medicago sativa*), a lóhere, (*Trifolium pratense*) és a bükköny (*Vicia villosa*) növényekből izolált baktériumtörzseknek (a desertomycin kivételével) ugyanezekkel az antibiotikumokkal szembeni érzékenységeivel (KECSKÉS és MANNINGER [7, 8]). Ezeket az eredményeket az ábrában található adatokkal összehasonlítva megállapíthatjuk, hogy bizonyos antibiotikumokkal szemben (neomycin, penicillin, kanacyn, vionactan) azonosan viselkednek az akác növényből származó baktérium-törzseink. Eltérést a streptomycinnel szemben tanúsított viselkedésben tapasztalhatunk, amely antibiotikum az akác rhizobiumát nem, míg az előbb felsorolt növényekből származókat meglehetősen nagy hígításban (0,5 $\mu\text{g/ml}$) is gátolta. Ezzel szemben a tetracyclin-hydrat az akác növényből izolált rhizobium-törzseket meglehetősen erősen gátolta, míg a bükköny, lucerna és lóhere baktériumainak zömét csak a legerősebb dózisban.

Az akác rhizobiumaival szemben leghatásosabb volt a tetracyclin-hydrat, ezután a kanacyn és a neomycin, kevésbé hatott a vionactan és hatástalannak látszik a penicillin, a streptomycin és a desertomycin az általunk alkalmazott dózisokban.

Az ábrából megállapíthatjuk azt is, hogy az akác baktérium-törzsei ugyanazzal az antibiotikummal szemben egyöntetűen viselkedtek. Ez annál érdekesebbnek mutatkozik, mert korábbi adataink szerint (KECSKÉS és MANNINGER [7, 8]) ugyanabból a pillangósvirágúkból izolált több baktérium-törzs meglehetősen eltérő antibiotikumérzékenységűnek bizonyult.

Úgy véljük, hogy a kapott eredményeink alapul szolgálhatnak további vizsgálatainkhoz, amelyekben megkíséréljük az antibiotikumok felhasználását az akác rhizobium baktériumok izolálásánál.

Összefoglalás

Az ország különböző helyeiről származó akác gyökérgumókból izoláltunk pálcikaalakú, önálló mozgással rendelkező, Gram-negatív rhizobium-törzseket. Ezek közül az élettani vizsgálatainkhoz teljesítőképeességeikre (gumóképzés és nitrogénfixálás) megvizsgált és leghatásosabbnak mutatkozott törzseket választottuk ki.

Tanulmányoztuk ezeknek a szervezeteknek 39 vegyülettel (mono-, di- és poliszaccharidok, alkoholok, szerves savak Na-sói, szalicin) és 17 aminosavval szembeni viselkedését.

A vizsgált törzsek általában a mono- és diszaccharidokat használják fel növekedésükhöz. A poliszaccharidokon a raffinóz kivételével nem tapasztalható növekedés. A szerves savak Na-sóit és az egyértékű alkoholokat csak elvértve hasznosítják.

Az aminosavak jó N-forrásként szolgáltak az akác rhizobiumai számára.

A megvizsgált antibiotikumok közül a leghatásosabb volt a tetracyclin-hydrat, a kanacyn és a neomycin, kevésbé hatott a vionactan, míg hatástalannak bizonyult a penicillin, a streptomycin és a desertomycin. Megállapíthattuk azt is, hogy a kísérleteknél felhasznált akác rhizobiumtörzsek ugyanazzal az antibiotikummal szemben egyöntetűen viselkedtek.

Érkezett : 1961. augusztus 1.

Irodalom

- [1] AYRES, S. H., RUPP, P. & JOHNSON, W. T.: A study of the alkaliforming bacteria in milk. U. S. Dept. Agric. Bull. 782. 1919.
- [2] BERGEY'S Manual of Determinative Bacteriology. Seventh Ed. Williams & Wilkins. Baltimore. 1957.
- [3] BOKOR, R.: Az akác *Bacillus radicolaval* való oltása és egyéb talajoltások technikai kivitelezése. Erd. Tud. Int. Közl. 8. sz. Sopron.
- [4] FEHÉR, D. & BOKOR, R.: Untersuchungen über die bakteriologische Wurzel-symbiose einiger Leguminosehöhlzer. Arch. Wiss. Botan. 2. 1926.
- [5] KECSKÉS, M.: Kitinbontó mikroorganizmusok élettani tanulmánya. Kandidátusi disszertáció. Sopron—Budapest. 1960.
- [6] KECSKÉS, M.: Talajmikroorganizmusok antibiotikumérzékenysége I. Antibiotikumok hatása a kitinbontó talajmikroorganizmusok növekedésére és kitinbontó tevékenységére. Agrokémia és Talajtan. 9. 549—558. 1961.
- [7] KECSKÉS, M. & MANNINGER, E.: Die Wirkung verschiedener Antibiotika auf das Wachstum der Rhizobien. Acta Microbiologica. 8. 253—257 1961.
- [8] KECSKÉS, M. & MANNINGER, E.: Effect of various antibiotics on the growth of Rhizobia. Canad. J. Microbiol. 1961. Megjelenés alatt.
- [9] KRASZILNYIKOV, N. A.: Opredelityely baktjerij aktinomicetov. Izd. A.N. SSSR. Moszkva—Leningrád. 1949.
- [10] LOCHHEAD, A. G. & CHASE, F. E.: Qualitative studies of soil microorganisms. V. Nutritional requirements of the predominant bacterial flora. Soil Sci. 55. 185—196. 1943.
- [11] MANNINGER, E. & Soós, T.: Rhizobium-baktériumok hatása az akác növekedésére. Az Erdő. 9. 238—240. 1960.

ДАННЫЕ ИЗУЧЕНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ АКАЦИИ

М. Кечкеш, Э. Маннингер и Т. Шош

Научно-Исследовательский Институт Почвоведения и Агрохимии АН Венгрии и Филексия Государственного Института по Производству Привойного Материала, Будапешт

Резюме

Ввиду того, что имеющиеся знания относительно клубеньковых бактерий акации весьма неполные, авторы поставили себе цель изучить способность бактерий, выделенных из корневых клубней акации усваивать С и N, а также их чувствительность к антибиотикам.

Исследования способности усваивать С проводились с перечисленными в табл. 1. 39 моно-, ди-, и полисахаридами, спиртами, натриевыми солями органических кислот и глюкозидами салицина.

В исследованиях использования С источником азота служил внесенный в количестве 1 весового % в основную неорганическую питательную среду Айреса и др. (1) $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$.

Для исследований усвоения азота пользовались основной питательной средой применяемой Лоххедом и Чезе [10].

Аминокислоты использовали в 0,01 молярных растворах, источники С — в 1% по весу растворах, а натриевые соли органических кислот, метиловый и этиловый спирт в растворах, содержащих 0,2 весовых %.

В исследованиях устойчивости против антибиотиков пользовались несколько модифицированным методом пластинок Отте и Кёхлера.

Исследованные штаммы вообще для своего развития использовали моно- и дисахариды. На полисахаридах, за исключением раффинозы, рост бактерий не наблюдался. Натриевые соли органических кислот и одновалентные спирты используются лишь изредка. Аминокислоты служили хорошими источниками азота для клубеньковых бактерий акации.

Из исследованных антибиотиков наиболее действенными оказались тетрациклин-гидрат, канацин и неомидин, меньшее действие оказал вионактан, а пенициллин, стреп-

томицин и дезертомицин совсем не действовали. Установили, что все, участвующие в опыте штаммы клубеньковых бактерий акации вели себя одинаково по отношению одного и того же антибиотика.

Табл. 1. Использование и ферментация углеводов клубеньковыми бактериями акации. (1) Источники углерода. (2) Обозначение штаммов бактерий. (3) Рост. (4) Кислота. (5) Газ. Обозначения: + положительный результат, ± слабо положительный результат, — отрицательный результат.

Рис. 1. Влияние антибиотиков на клубеньковые бактерий акации. (1) рост, (2) торможение.

Some Observations on the Physiological Characteristics of the Rhizobia of Acacia Trees

M. KECSKÉS, E. MANNINGER and T. SOÓS

Research Institute for Soil Science and Agricultural Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences, and Phylaxi National Laboratories for Vaccine Production, Budapest

Summary

Since our knowledge regarding to rhizobia of acacia trees is very limited, experiments were carried out to study carbon- and nitrogen-utilization and sensitivity to antibiotics of some rhizobium strains freshly isolated from acacia trees.

The 39 carbon sources applied in these studies are listed in Table 1. These compounds are mono-, di- and polysaccharides, alcohol, Na-salts of organic acids, and salicyl glycosides.

In the studies of carbon utilization the inorganic nutrient of AYRES and co-workers [1] was applied with 0.1% (W/W) $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ as the nitrogen source.

Utilization of the amino acids listed in Table 2 was compared using nutrient of LOCHHEAD and CHASE [10] as a basal medium.

Amino acids were applied in a concentration of 0.01 M, the Na-salts of organic acids and methanol and ethanol in 0.2% (w/v), while all the other carbon sources were added to the basal medium in a final concentration of 1.0%.

The plate-method of Otte and Köchler was used with slight modifications for testing the sensitivity of the strains to antibiotics.

Most of the strains utilized preferentially mono- and disaccharides as carbon sources. With the exception of raffinose, none of the polysaccharides studied were utilized for growth. Only some of the organic acids and monovalent alcohols were utilized in these studies. Amino acids were generally adequate nitrogen-sources.

Of the antibiotics studied tetracyclin-hydrate, kanacin and neomycin were most active followed by vionactan, while penicillin, streptomycin and desertomycin were inactive. Towards these antibiotics identical reactions were shown by all the strains studied.

Table 1. Utilization and fermentation of carbohydrates by rhizobia of acacia trees. (1) Carbon source. (2) Strain No. (3) Growth. (4) Acid production. (5) Gas production. Explanations: + positive result, ± slightly positive result, — negative result.

Fig. 1. The effect of antibiotics on rhizobia of acacia trees 1: normal growth, 2: growth inhibition